



УДК: 616.381-002-02:579.842]-085.33-092.9

ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИ АНТИБИОТИКО- И ФАГОТЕРАПИИ ПЕРИТОНИТА, ВЫЗВАННОГО E. COLI

В.В. МИНУХИН
А.В. СИРИЦА
О.Ю. КОСИЛОВА

*Харьковский национальный
медицинский университет,
Украина*

e-mail: v. minukhin@mail.ru

На фоне глобализации проблемы антибиотикорезистентности возобновился интерес к фаготерапии как к перспективному методу лечения бактериальных инфекций. Бактериофаги способствуют элиминации бактерий *in vivo* как путем прямой бактерицидной активности, так и посредством активации фагоцитирующих клеток. В эксперименте на модели мышей проведена оценка активности фагоцитоза при антибиотико и фаготерапии перитонита вызванного *E. coli*. Согласно с результатами анализа антибиотикочувствительности *E. coli* для лечения больных животных выбраны амикацин и гатифлоксацин. Для фаготерапии взят колипротейный бактериофаг. Результаты исследования показали, что как при монотерапии гатифлоксацином и амикацином, так и при использовании комбинации гатифлоксацина, амикацина и бактериофага показатели фагоцитоза были ниже контрольных значений на протяжении всего периода лечения. При монотерапии бактериофагом отмечено повышение активности фагоцитирующих клеток, при комбинации гатифлоксацина с коли-протейным бактериофагом показатели фагоцитоза соответствовали норме. Полученные результаты указывают на способность бактериофага активировать фагоцитоз, что может быть использовано для комбинированного лечения перитонита вызванного *E. coli*.

Ключевые слова: фагоцитоз, *E. coli*, фаготерапия, антибиотикотерапия.

В настоящее время проблема антибиотикостойчивости бактерий приобрела глобальное значение. За последние 30 лет, несмотря на интенсивную работу фармацевтических компаний, не создано ни одного нового класса антибиотиков [1]. Поэтому особый интерес вызывают альтернативные способы лечения бактериальных инфекций. В том числе возобновился интерес к фаготерапии [2]. Фаготерапия разработана в начале 20-го века. В то время новый подход в лечении бактериальных инфекций вызвал многочисленные споры, однако оказался многообещающим [1].

За последние 50 лет в Восточной Европе проведен ряд развернутых клинических исследований, посвященных использованию бактериофагов для лечения бактериальных инфекций [3]. Результаты исследований показали, что бактериофаги способствуют элиминации бактерий *in vivo* не только благодаря прямой бактерицидной активности, но и посредством активации фагоцитирующих клеток [4], которые играют важную роль в формировании антибактериального иммунного ответа. Кроме того, в отличие от антибиотиков, бактериофаги не подавляют нормальную микрофлору в организме человека и не токсичны [5].

Цель. Данное исследование направлено на оценку активности фагоцитоза при антибиотико и фаготерапии экспериментального перитонита вызванного *E. coli*.

Материалы и методы. Для эксперимента взято 80 беспородных белых мышей весом 18-20 г. В 1-ю контрольную группу вошли 10 здоровых мышей, в остальные 7 экспериментальных групп вошло по 10 мышей с перитонитом, вызванным внутриперитонеальным введением 0,5 мл 10% суспензии стерильных фекалий мышей с суточной культурой *E. coli* ATCC 25922 ($5 \cdot 10^8$ микробных тел на мышь).

На основании результатов анализа антибиотикочувствительности *E. coli* для лечения больных животных выбраны гатифлоксацин и амикацин. В качестве дополнительного противомикробного средства взят колипротейный бактериофаг. Препараты вводились внутривентрально как по-отдельности, так и в комбинациях. 1-я группа получала физиологический раствор, 2-я группа получала лечение амикацином, 3-я – гатифлоксацином, 4-я – коли-протейным бактериофагом, 5-я – амикацином и гатифлоксацином, 6-я – амикацином и коли-протейным бактериофагом, 7-я – гатифлоксацином и коли-протейным бактериофагом, 8-я – амикацином, гатифлоксацином и коли-протейным бактериофагом. Терапевтические дозы рассчитывали исходя из массы тела животных: доза амикацина составляла 0,2 мг/кг, гатифлоксацина –



0,25 мг/кг, коли-протейного бактериофага – 0,03 мг/кг. Биологические параметры фагоцитоза оценивали в динамике на 1-е, 3-и и 5-е сутки противомикробной терапии. Активность, интенсивность и завершенность фагоцитоза определяли по методу В.М. Бермана, Е.М. Славской в модификации А.И. Иванова, Б.А. Чухловина [6]. В качестве объекта фагоцитоза использовали *N. meningitidis*. Мазки подсушивали на воздухе, фиксировали 1% водным раствором метиленового синего в течение 5 мин. и окрашивали азур II-эозином на протяжении 5-8 мин. Результаты, полученные в ходе эксперимента, представлены в таблице.

Таблица

Сравнение биохимических параметров активности фагоцитоза при разных схемах антимикробной терапии перитонита вызванного *E. Coli*

Биологические параметры	Группы																					
	1	2			3		4		5			6			7			8				
	ФР	А			Г		КПБФ		А+Г			А+КПБФ			Г+КПБФ			А+Г+КПБФ				
Контроль	1 день	3 день	5 день	1 день	3 день	5 день	1 день	3 день	5 день	1 день	3 день	5 день	1 день	3 день	5 день	1 день	3 день	5 день	1 день	3 день	5 день	
Фагоцитарное число	48,0±50	28,5±4,50	29,2±4,50	46,7±4,98	40,8±4,90	42,9±4,90	47,8±4,90	55,4±4,97	54,7±4,97	48,0±4,99	26,0±4,38*	32,9±4,69	44,5±4,96	29,1±4,54	30,1±4,58	47,2±4,99	56,2±4,96	51,0±4,99	48,0±4,99	24,8±4,31*	29,0±4,53	40,7±4,90
Фагоцитарный индекс	1,2	0,6	0,8	1,1	0,5	0,8	1,2	2,8	2,1	1,2	0,3	0,5	1,0	0,7	0,9	1,2	0,9	1,0	1,2	0,2	0,4	0,8
Завершенность фагоцитоза	70,0±4,60	34,0±4,70	41,0±4,90	68,0±4,60	32,0±4,60	33,0±4,70	65,0±4,70	72,0±4,48	70,0±4,58	70,0±4,58	30,0±4,58*	34,0±4,73*	63,0±4,80	37,0±4,80	40,0±4,89	69,0±4,60	43,0±4,95	59,0±4,90	69,0±4,62	27,0±4,43*	32,0±4,66*	61,0±4,87

* – $p \leq 0,05$;

Г – гатифлоксацин, А – амикацин, КПБФ – колипротейный бактериофаг, ФР – физиологический раствор.

Результаты и их обсуждение. Показатели фагоцитоза в контрольной группе мышей соответствовали общепринятой норме: уровень активности фагоцитоза составил $48 \pm 5\%$, фагоцитарный индекс – 1,2 и завершенность фагоцитоза – $70 \pm 4,6\%$.

При монотерапии амикацином (2-я группа) и гатифлоксацином (3-я группа) показатели активности фагоцитоза были ниже контрольных значений на протяжении всего периода эксперимента. По некоторым данным литературы препараты группы фторхинолонов оказывают стимулирующее действие на иммунную систему, в том числе повышают фагоцитарную активность полинуклеаров и макрофагов [7]. Однако, согласно с результатами, полученными в ходе эксперимента, гатифлоксацин не показал выраженного стимулирующего действия на клеточное звено иммунитета.

При монотерапии коли-протейным бактериофагом (4-я группа) в 1-й и 3-й дни показатели активности фагоцитоза превышали контрольные значения, а на 5-й день соответствовали норме. Показатели фагоцитоза при комбинированном лечении коли-протейным бактериофагом и гатифлоксацином (7-я группа) достоверно не отличались от контрольных значений. На фоне введения амикацина в сочетании с бактериофагом (6 группа) нормализация показателей фагоцитоза отмечена на 5-й день терапии. Таким образом, в группах 4, 6 и 7 показатели фагоцитоза варьировали в пределах нормы, что указывает на способность бактериофага стимулировать клеточное звено иммунитета.



В 5-й группе при лечении двумя антибиотиками и 8-й группе при комбинированном лечении гатифлоксацином, амикацином и коли-протейным бактериофагом активность фагоцитоза была достоверно ниже контрольных значений ($p \leq 0,05$). Возможно, такой результат связан с суммированием иммуносупрессивного действия двух антибиотиков.

Выводы. На основании проведенного эксперимента можно сделать следующие выводы: При монотерапии колипротейным бактериофагом биологические показатели фагоцитоза в первые 3-е суток превышали контрольные значения, а на 5-й день соответствовали норме, что говорит о способности бактериофага стимулировать клеточное звено иммунитета. При комбинированном лечении гатифлоксацином и колипротейным бактериофагом показатели активности фагоцитоза соответствовали норме. Таким образом, предложенная комбинация противомикробных средств может быть рекомендована для терапии перитонита вызванного *E. coli*.

При одновременном введении гатифлоксацина и амикацина показатели фагоцитоза были достоверно ниже контрольных ($p \leq 0,05$). Комбинированное лечение амикацином, гатифлоксацином и коли-протейным бактериофагом также не дало положительной динамики, что, возможно, связано с суммированием иммуносупрессивного действия двух антибиотиков. Таким образом, использование более одного антибиотика одновременно может снизить фагоцитарную активность и повлиять на качество иммунного ответа в целом.

Литература

1. Брендан Боррелл. Фаговая терапия / Брендан Боррелл // В мире науки. – 2012. – N 10. – С. 78-81.
2. Сравнение фагоцитарной активности при антибиотико и фаготерапии перитонита, вызванного *E.coli*: міжвузівська конференція молодих вчених та студентів [«Медицина третього тисячоліття»], (Харків, 15-16 січ. 2013 р.) / М-во охор. здор. України, Харк. націон. мед. ун-т. – Х. : Харк. націон. мед. ун-т, 2013. – 364 с.
3. In vitro phagocytosis of methicillin resistant and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* by human polymorphonuclear leucocytes: 14th International Congress of Immunology, (Kobe, 22 – 27 of August 2010 y.) – Kobe, 2010. – P. 88.
4. Experimental phage therapy in treating *Klebsiella pneumonia*-mediated liver abscesses and bacteremia in the mouse model : 14th International Congress of Immunology, (Kobe, 22 – 27 of August 2010 y.) – Kobe, 2010. – P. 103.
5. Age-associated change in the phagocytic activity of macrophages from SAM mice: 14th International Congress of Immunology, (Kobe, 22 – 27 of August 2010 y.) – Kobe, 2010. – P. iv 150.
6. Іванов О.І. До методики вивчення поглинальної здатності, що перетравлює нейтрофіли / О.І. Іванов, А.Б. Чухловін // Лабораторна справа. – 1967. – № 10. – С. 610-613.
7. Лернер П.М. Будущее медицины за бактериофагами / П.М. Лернер // Записки эпидемиолога. Израиль. – 2010. № . – С. 87-95.

PHAGOCYTIC ACTIVITY UNDER ANTIBIOTIC AND PHAGE THERAPY OF PERITONITIS IS CAUSED BY *E. COLI*

Interest in phage therapy is recommenced because antibiotic resistance of bacteria became wide spread and polyresistant strains appeared. Bacteriophages eliminate bacteria as by direct bactericidal activity, as by activation of phagocytosis. Objective of the research was assessment of phagocytic activity during antibiotic and bacteriophage treatment of experimental peritonitis is caused by *E. coli*. Selection of amikacin and gatifloxacin for antibiotic treatment was based on results of analysis of antibiotic sensitivity of *E. coli*. Bacteriophagum coliproteicum were taken for phage therapy. The animals received as monotherapy with gatifloxacin and amikacin, as combined therapy with gatifloxacin, amikacin and bacteriophagum coliproteicum had low parameters of phagocytosis. During monotherapy with bacteriophagum phagocytic activity was high. Normalization of parameters of phagocytosis was survived under combination of gatifloxacin with bacteriophagum. The results suggest activation of phagocytic cells by bacteriophage. Combined therapy with gatifloxacin and coliproteicum bacteriophage can be recommended for peritonitis is caused by *E. coli*.

Keywords: phagocytosis, *E. coli*, phage therapy, antibiotic therapy.

**V.V. MINUKHIN
A.V. SIRITSA
O.U. KOSILOVA**

*Kharkiv National
Medical University*

*e-mail: v.
minukhin@mail.ru*